

管性蛋白尿仅1例,占3.3%。该结果提示,目前在临床上最常见的为肾小球病变患者,以混合尿为特征的肾小球和肾小管同时受损的并不多见,而单纯肾小管蛋白尿更少见,但早期诊断十分重要。尿蛋白的SDS电泳不仅与临床诊断相一致,而且为临床的早期诊断提供了可靠依据。另外,若利用SDS-PAGE对肾病患者尿蛋白分子量的改变情况连续进行监测,对于治疗效果和预后的判断都有较高的临床价值。

### 参 考 文 献

1 Stierle H E, Oser B, Boesken W H. Improved classification of proteinuria by semiautomated ultrathin SDS poly-

acrylamid gel electrophoresis. *Clin Nephrol*, 1990;33(4): 168

2 Cooper E H, Jackson P J, Olsson B. Rapid analysis of proteinuria using SDS gradient PAGE and IEF. *PhastSystem Application File No 370*. Pharmacia LKB, Uppsala, 1987

3 许丽芬,张惠珠,陈梅芳.快速区分肾小球及肾小管蛋白尿的方法.中华医学检验杂志,1981;4(3):143

4 罗佩,王平.快速灵敏的尿蛋白电泳检测法及其初步应用.中华医学检验杂志,1989;12(5):303

5 赵善政,陈明伟.微克水平蛋白质的染料结合比色法——应用于尿蛋白和脑脊液蛋白定量.中华医学检验杂志,1983;6(4):210

## 自旋捕集短寿命自由基的低温保存

丛建波 孙存普 莫 简\*

(军事医学科学院放射医学研究所,北京 100850)

**关键词** 自旋捕集,短寿命自由基,ESR,自旋加合物

自旋捕集<sup>[1]</sup> (spin trapping) 技术的建立,为化学反应中的自由基中间体和生命过程中的短寿命自由基的ESR检测开辟了新的途径。此方法是利用捕集剂与短寿命自由基结合生成相对稳定的自由基,即自旋加合物,但自旋加合物的寿命仍然很短,只有几分钟或几十分钟,必须在捕集自由基后立即进行ESR测量,因此限制了许多实验研究。

我们采用液氮(77°K)保存自旋加合物的方法,延长了自旋加合物的寿命。结果表明,低温贮存几日后自旋加合物浓度基本不变。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 试剂

1.1.1 捕集剂 DMPO (5,5-dimethyl 1-pyrroline-1-oxide),为美国Sigma公司产品,经活性炭纯化<sup>[2]</sup>后工作液无ESR信号,置-20℃避光保存。

NtB (2-methyl-2-Nitrosopropane Dimer) 为美国Sigma产品,配制后避光搅拌过夜,呈淡蓝色可用。

1.1.2 羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )产生体系中 $\text{H}_2\text{O}_2$ , EDTA,  $\text{Fe}(\text{NH}_4\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{Fe}^{2+}$ )均为国产AR级试剂,临用前用双蒸水配制。

1.1.3 超氧阴离子自由基( $\text{O}_2^-$ )产生体系 次黄

嘌呤(hypoxanthine, HX), Fluka, 上海试剂采购站分装;黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase, XO),中科院上海生化所东风生化技术公司产品;DETP(二乙烯三胺乙酸)为国产试剂,均用0.05mol/L磷酸缓冲液,pH7.4(PBS)配制。

1.1.4 胸腺嘧啶核苷(dT)和四环素类衍生物(IC),用PBS配制待用。

#### 1.2 自由基加合物的形成及其存放。

1.2.1 DMPO-OH加合物<sup>[3]</sup> DMPO 0.08mol/L +  $\text{H}_2\text{O}_2$  0.03mmol/L + EDTA 5mmol/L +  $\text{Fe}^{2+}$  0.2mmol/L。

1.2.2 DMPO-OOH加合物<sup>[3]</sup> DMPO 0.08mol/L + HX 0.43mmol/L + DETP 0.1mmol/L + XO 0.07 U/ml。

1.2.3 dT和IC自由基加合物 NtB 0.01mol/L + dT 0.2mg/ml; DMPO 0.08mol/L + IC 0.3mg/ml。二者均 $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 射线200Gy照射。

将上述各体系制备好数份样品,装入塑料离心管中,除一份立即测ESR波谱外,其余立即置于液氮中冻

\*西安第四军医大学化学系, 邮码710032。

收稿日期: 1992-06-05 修回日期: 1992-09-07

结保存, 分别于 1, 2, 3, 4 日取出解冻测量.

1.2.4 ESR 测量 解冻样品吸入毛细管中, 立即室温测量. 采用西德 Bruker-ESP 300 型电子顺磁共振波谱仪 (ESR) 测量, 调制频率 25kHz, 调制幅度 1G, 扫描时间 42s, 中心磁场 3470G, 扫场宽度 100G, 功率 10mW.

## 2 结果与讨论

液氮 (77°K) 保存 DMPO-OH, DMPO-OOH,

DMPO-IC, NtB-dT 自旋加合物 3—4d, 其 ESR 波谱峰高、积分值没有明显衰减 (见表 1)

由以上结果可以说明, 液氮保存短寿命自由基自旋加合物, 可以使其寿命延长. 对于没有 ESR 测量条件而不能实施 ESR 测量的短寿命自由基, 可以选用本方法, 选择合适的捕集剂, 捕集后立即置于液氮中保存, 需要时即可取出解冻测量.

表 1 77°K 保存不同时间  $O_2^-$ ,  $\cdot OH$ , IC 和 dT 自由基自旋加合物 ESR 信号 (第二峰) 强度的变化

保存时间	DMPO-OH	DMPO-OOH <sup>1)</sup>	DMPO-IC	NtB-dT
即刻	4.897±0.091	3.169±1.045	2.6	4.9
1d	4.014±0.330	2.773±0.913	2.1	4.8
2d	4.144±0.170	3.302±0.936	2.6	4.7
3d	4.238±0.144	3.117±1.521	2.3	
4d			2.8	

1) 为 ESR 积分相对值, 其余为峰高相对值.

## 参 考 文 献

- 1 张建中等. 自旋标记 ESR 波谱的基本理论和应用, 北京: 科学出版社, 1987
- 2 Colowick S P, Kaplan N O. Oxygen radicals in biological system. *Methods in Enzymology*, 1984; vol 105
- 3 莫简等. 医用自由基生物学导论, 北京: 人民卫生出版社, 1989

## 肝素钠生产技术

肝素钠是临床上安全、速效、常用的抗凝血剂, 在医疗、保健及日化常用物品上具有愈来愈广泛的应用价值, 同时也是出口创汇产品. 本品原料来源丰富, 生产工艺简单, 投资省、见效快. 规模可大可小. 生产该产品主要原料为猪小肠、树脂、盐酸等. 设备为反应缸、过滤器、光度计. 投资 2 000 元, 产品成本 2 000 元/kg,

包销价 4 000 元/kg, 适合广大中小企业及个体户接产.

本所备有全套技术资料、工艺流程、样品、负责技术培训和指导, 并包销全部产品, 培训费 6 000 元.

[北京 2075 信箱 20816 部 郭静峰 邮编: 100035  
电话: 5762127, 5762801, 5762194]

## 食品淀粉酶的特异性吸附分离提取技术研究

本课题研究的食品级  $\alpha$  淀粉酶提取工艺, 采用高分子分离介质来提取淀粉酶, 分离率平均为 98.7%. 与超滤法相比, 具有设备投资少、工艺简单的特点; 与酒精沉淀法相比, 酒精用量少 (每吨成品酶酒精耗量小于 0.3 吨)、能耗低, 从而成本降低, 经济效益提高. 本工

艺制备的食品级  $\alpha$  淀粉酶产品符合 GB8275-87 国家标准. 委托检索费: 单位 17 元, 个人 14 元.

[北京 867 信箱 20816 组 李群 邮编: 100024  
电话: 5762127, 5762194]